UNIVERSITE D'ALGER
FACULTE DE MEDECINE

ENSEIGNEMENT DE MICROBIOLOGIE

4ème ANNEE DE MEDECINE

STRATEGIES DE MULTIPLICATION DES VIRUS

Pr. Samir GOURARI

2016

PLAN :

1- INTRODUCTION :

Les virus sont des parasites intracellulaires stricts, ils ne peuvent se multiplier qu'à l'intérieur d'une cellule-hôte en détournant la machinerie cellulaire à leur profit.

La connaissance des différentes étapes du cycle de multiplication virale représente un outil précieux pour comprendre la pathogenèse des infections virales et pour développer des molécules antivirales. D'autre part, l'étude du cycle de réplication viral a permis d'améliorer nos connaissances en biologie cellulaire (pour exemple, le mécanisme d'épissage a été découvert en premier chez les adénovirus).

2- RELATION VIRUS - CELLULE :

Une cellule est dite sensible à un virus donné si elle peut être infectée par celui-ci. L'infection de cellules **sensibles** peut être de trois types:

— **Infection productive :** se déroule au sein d'une cellule **permissive** et se caractérise par l'expression de l'ensemble du programme génétique du virus, aboutissant à la production de nouvelles particules virales infectieuses.

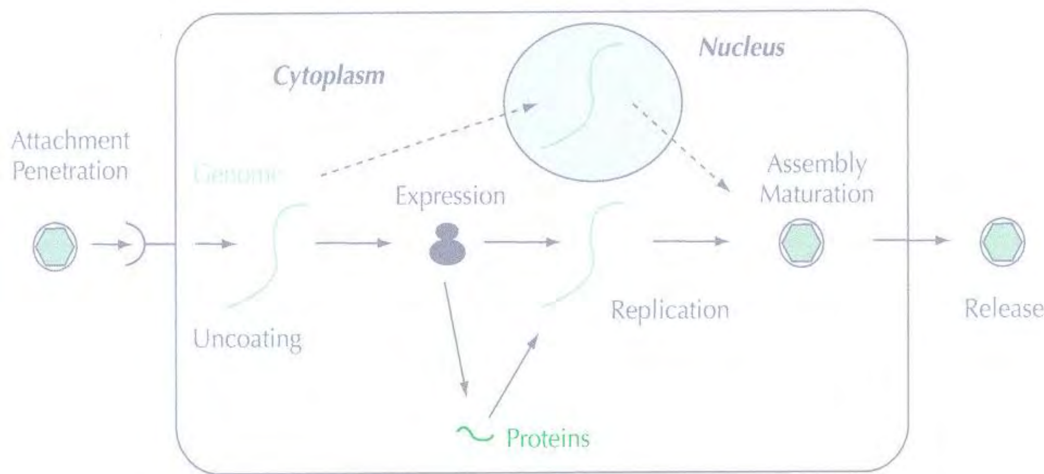
— **Infection abortive:** elle n'aboutit pas à la production de nouvelles particules virales infectieuses, soit parce que la cellule est non permissive, soit que le virus est défectif.

— **Infection latente :** se caractérise par une expression restreinte des gènes viraux dans des cellules transitoirement non permissives.

3- LES ETAPES DU CYCLE DE MULTIPLICATION VIRALE AU COURS D'UNE INFECTION PRODUCTIVE :

La durée du cycle viral peut varier d’un virus à l’autre en fonction de la taille du génome et de la complexité du cycle : 4 à 8 heures pour le poliovirus, plus de 40 heures pour les *Herpesviridae*.

La réplication virale peut être divisée arbitrairement en huit étapes (voir figure ci-dessous).



Les différentes étapes du cycle de réplication virale au cours d'une infection productive: Attachement, pénétration, décapsidation, expression et réplication du génome, assemblage, maturation et libération

3.1- Attachement ou adsorption du virus:

La première étape du cycle de multiplication consiste en l'attachement du virus à la surface cellulaire. Cette fixation résulte de l'interaction entre un ligand viral (anti-récepteur) et un récepteur cellulaire. Ces récepteurs peuvent être des protéines (glycoprotéines) ou des résidus carbohydrates présents sur des glycoprotéines ou des glycolipides

Récepteur cellulaire	Exemple de virus (ligand)
PVR	Poliovirus (VP1)
CD4 et CXCR4, CCR5	HIV (gp 120)
CD21	EBV (gp350)
ICAM-1	La plupart des Rhinovirus
LDL receptor	Certains Rhinovirus
Aminopeptidase N	Coronavirus (gp180)
Acide sialique	Influenzavirus (hémagglutinine), Rotavirus
Récepteur pour Fc des IgG (macrophages)	Virus de la dengue lié aux IgG

Les récepteurs cellulaires appartiennent à différentes classes: superfamille des immunoglobulines, transporteurs transmembranaires…Ceux-ci sont destinés à des fonctions physiologiques pour la cellule, que les virus détournent.

A l'intérieur d'une même famille virale (*Picornaviridae*), il peut exister une variation considérable de structures utilisées comme récepteurs. Certains virus complexes (poxvirus, herpesvirus) utilisent plus d'un récepteur, et ont donc plusieurs alternatives pour entrer dans une cellule. Inversement, des virus différents comme les coxsackievirus et les adénovirus peuvent se fixer sur un même récepteur appartenant à la famille des intégrines.

Si le virus ne pénètre pas dans la cellule, il peut être élué de la surface cellulaire. Certains virus possèdent des mécanismes spécifiques de détachement, c'est l'exemple de la neuraminidase du virus grippal.

Généralement, l'expression (ou l'absence) de récepteurs à la surface cellulaire détermine largement le tropisme d'un virus.

Pour certains virus (HIV par exemple), cette reconnaissance ligand-récepteur n'est pas suffisante pour l'entrée dans la cellule hôte. D'autres molécules de surface sont nécessaires; les corécepteurs. Dans le cas du HIV, il s'agit notamment des récepteurs de chimiokines, CXCR4 et CCR5. Selon le corécepteur qu'ils utilisent, les virus sont appelés R5 (utilisation de CCR5), X4 (utilisation de CXCR4) ou R5X4 (utilisation de CCR5 et/ou CXCR4). **Un inhibiteur du CCR5 a été développé, il s'agit du Maraviroc.**

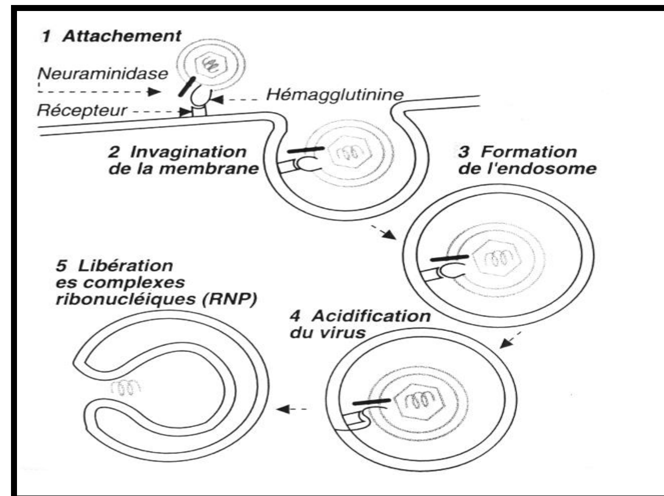
3.2- <u>Pénétration</u> :

Suite à l'interaction avec son récepteur, le virus doit pénétrer à l'intérieur de la cellule. Contrairement à l'attachement, la pénétration est généralement un processus énergie-dépendant; c'est pourquoi, la cellule doit être métaboliquement active pour que le phénomène ait lieu. Trois mécanismes principaux sont évoqués :

3.2.1- Endocytose :

C'est probablement le mécanisme le plus courant pour pénétrer dans la cellule. Il concerne aussi bien les virus enveloppés que non-enveloppés.
L'interaction entre le récepteur et le ligand déclenche l'internalisation du virus via le schéma classique d'endocytose par formation de puits de clathrine à la surface cellulaire puis d'une vésicule, l'endosome. Une acidification du virus au sein de l'endosome est induite par "une pompe à protons", la protéine M2 pour le virus influenza A, qui modifie la conformation des protéines virales d'attachement (hémagglutinine pour influenza A). Ces modifications

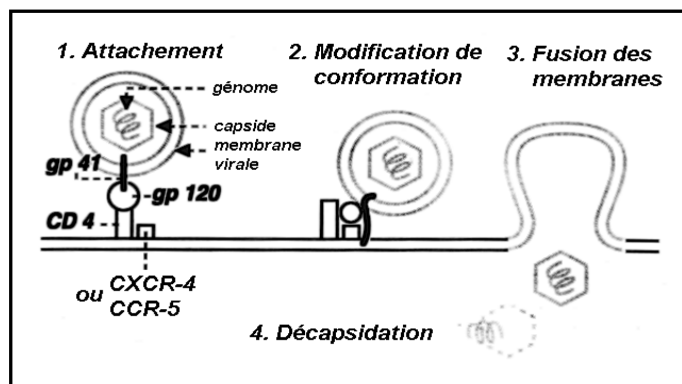
exposent des régions protéiques hydrophobes, normalement cachées, qui réagissent avec les lipides de la membrane de l'endosome. Il s'ensuit une fusion des membranes et une libération de la nucléocapside dans le cytosol. Pour l'adénovirus (virus nu), l'endosome se disloque très rapidement sous l'influence d'une baisse du pH, libérant des complexes ADN-protéines. **La protéine M2 du virus grippal de type A est la cible de molécules antivirales: amantadine et rimantadine.**



Pénétration par endocytose du virus grippal

3.2.2- Fusion :

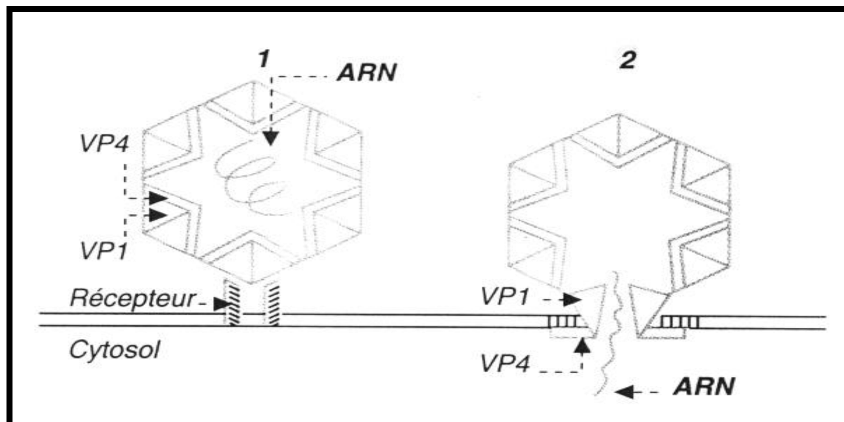
Ce processus concerne uniquement les virus enveloppés**.** La fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cytoplasmique, soit directement à la surface cellulaire (exemple du HIV) ou après endocytose, nécessite la présence d'une protéine spécifique de fusion au niveau de l'enveloppe virale (exemple de l'hémagglutinine du virus influenza). Ainsi cette fusion aboutit à la libération de la capside virale dans le cytoplasme. **L'enfuvirtide, un antiviral utilisé dans le traitement de l'infection HIV est un inhibiteur de la fusion.**



Pénétration par fusion de l'enveloppe virale (HIV) avec la membrane cytoplasmique

3.2.3- Transfert :

Un troisième mécanisme, beaucoup moins courant, le transfert du matériel viral à travers la membrane cellulaire, concerne les *Picornaviridae*.



3.3- Décapsidation :

La décapsidation définit l'étape au cours de laquelle le génome et la capside sont dissociés, ce qui aboutit à la libération du génome viral sous une forme sous laquelle il pourra être exprimé puis répliqué. Le processus de décapsidation ne répond pas à un modèle unique. Elle peut commencer lors de l'attachement au récepteur cellulaire, avoir lieu en même temps que la pénétration dans la cellule ou plus tardivement. Elle peut s'effectuer en une ou plusieurs étapes, être totale ou partielle (rotavirus).

3.4- Expression et réplication des génomes viraux :

La stratégie de réplication de chaque virus dépend de la nature de son matériel génétique. Ainsi, les virus peuvent être divisés en sept groupes

3.4.1- Virus à ADN double brin (ADNdb ou ADN bicaténaire) :

Les *Papillomaviridae, Polyomaviridae, Adenoviridae et Herpesviridae* se multiplient dans le noyau et leur réplication est relativement dépendante de facteurs cellulaires. Par contre les *Poxviridae* se multiplient dans le cytoplasme, ils possèdent la plupart des facteurs nécessaires à leurs synthèses et sont donc largement indépendant de la machinerie cellulaire.

Le cycle infectieux des virus à ADNdb peut être subdivisé en deux phases : une phase précoce, et une phase tardive qui survient après la réplication de l'ADN viral (chez les *Herpesviridae*, on distingue trois phases).

La phase précoce: où une partie du génome viral est transcrite en ARNm dits précoces. Ceux-ci sont traduits en protéines non structurales nécessaires à la réplication de l'ADN viral et au contrôle de l'expression des gènes

Réplication de l'ADN viral: les virus simples comme les papillomavirus utilisent de nombreuses protéines cellulaires pour leur réplication. D'autres comme les *Herpesviridae* synthétisent plusieurs protéines spécifiques de la réplication de leur ADN. Celles-ci peuvent être la cible d'antiviraux, exemples: **l'aciclovir inhibe l'ADN polymérase du HSV et le ganciclovir inhibe celle du CMV.**

La réplication des Polyomaviridae et des Papillomaviridae est bidirectionnelle, celle des Herpesviridae est également bidirectionnelle après circularisation de leur génome linéaire (un deuxième mécanisme possible correspond à un modèle du cercle roulant toujours après circularisation du génome), tandis que la réplication des Adenoviridae est unidirectionnelle et asymétrique.

La phase tardive: où les ADNs néoformés vont servir de matrices pour une deuxième transcription, aboutissant à la formation d'ARNm tardifs qui seront traduits en protéines de structure (capside, enveloppe).

3.4.2 - Virus à ADN simple brin (ADNsb ou ADN monocaténaire):

Ce groupe est représenté par les *Parvoviridae*, leur réplication est nucléaire et dépendante de la cellule hôte. Certains ont une multiplication autonome (Erythrovirus dont le parvovirus B19), d'autres sont défectifs (Dependovirus) et ont besoin de la présence d'un virus auxiliaire qui peut être un adénovirus ou un herpès virus. La multiplication de ces virus nécessite la formation d'un ADNdb intermédiaire qui sert de matrice pour la synthèse de la progéniture ADNsb.

3.4.3 - Virus à ARN de polarité positive:

Ce sont des virus dont l'ARN génomique est codant, ex: le poliovirus, le virus de l'hépatite C (VHC).

L'ARN viral est directement traduit en une polyprotéine, celle-ci est clivée par des protéases en plusieurs protéines (transcriptase,…). Ensuite il y'a synthèse d'un brin d'ARN négatif complémentaire de l'ARN viral grâce à l'**ARN polymérase ARN dépendante** (transcriptase virale). Le brin négatif néo synthétisé sert de matrice à la transcriptase pour la synthèse de nombreux brins positifs. Enfin ces derniers peuvent à leur tour être traduits ou servir d'ARNs génomiques.

L'ARN polymérase ARN dépendante du VHC est la cible de molécules antivirales récemment mises sur le marché : sofosbuvir, dasabuvir…

3.4.4 - Virus à ARN de polarité négative : l'ARN est non infectieux

Les génomes de ces virus peuvent être divisés en deux types: génomes segmentés (*Orthomyxoviridae, Bunyaviridae*) et non segmentés (*Paramyxoviridae*...).

La première étape de leur réplication est la transcription d'ARN messagers à partir de l'ARN génomique (-), grâce à une **ARN polymérase ARN dépendante virionique** (transcriptase associée au virion) et dont la traduction va aboutir à la synthèse de protéines virales (transcriptase, protéine N,..). Ensuite il y a synthèse d'un ARN (+) complémentaire de la totalité du brin (-). Ce brin (+) sert à son tour de matrice pour la synthèse de nouveaux ARN(-) génomiques.

3.4.5 - Virus à ARN double brin (ARNdb ou ARN bicaténaire) :

Cette classe est représentée par les *Réoviridae* (rotavirus,..), ils ont un génome segmenté. Les ARN génomiques étant bicaténaires, le brin plus ne peut être traduit en protéines par la cellule. A la phase précoce de l'infection, il y a transcription d'un ARNm à partir du brin négatif de chaque segment du génome, grâce à **l'ARN polymérase ARN dépendante virionique** (transcriptase associée au virion). Cette transcription primaire a lieu à l'intérieur des particules virales partiellement décapsidées, et aboutit à la formation d'ARNm coiffés mais sans poly(A). Plus tardivement, une transcription secondaire va avoir lieu et donner naissance à des ARNm non coiffés et sans poly(A).

Le génome est répliqué de façon **conservative** (chaque brin donne naissance à plusieurs brins, et non pas un pour un comme c'est le cas dans la réplication semi conservative).

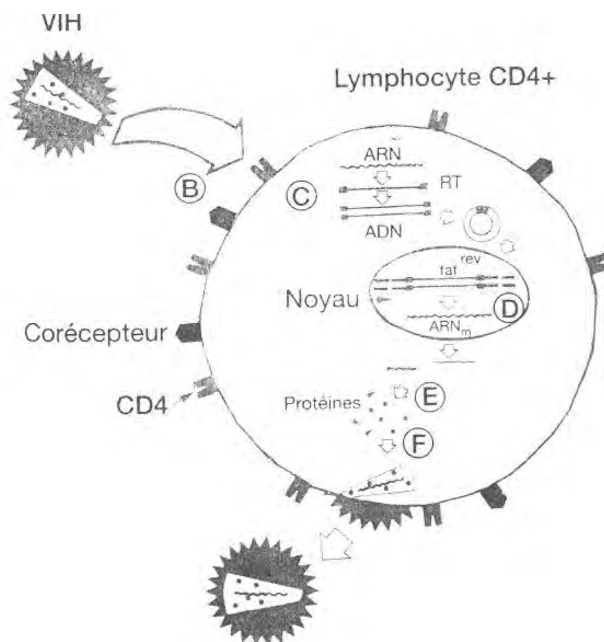
3.4.6 - Virus à ARN utilisant une Reverse Transcriptase pour leur réplication : ***Rétroviridae*** (exemple du HIV)

Ils ont un génome diploïde, constitué de deux brins ARN + (exemple : HIV).

L'ARN génomique est transcrit en un ADN complémentaire double brin grâce à l'**ADN polymérase ARN dépendante virionique** (Reverse Transcriptase associée au virion), au niveau du cytoplasme. S'ensuit l'import nucléaire et l'intégration de l'ADN (appelé proviral) au sein du génome de la cellule hôte grâce à l'intégrase virale. A partir de cet ADN proviral intégré, se font l'expression des gènes viraux et la réplication du virus.

La transcriptase inverse du HIV est la cible de nombreuses molécules antirétrovirales, les inhibiteurs nucléosidiques (Tenofovir, Abacavir,..) et les inhibiteurs non nucléosidiques (Névirapine, Efavirenz,..).

L'intégrase du HIV est elle aussi la cible d'antiviraux, comme le raltégravir .



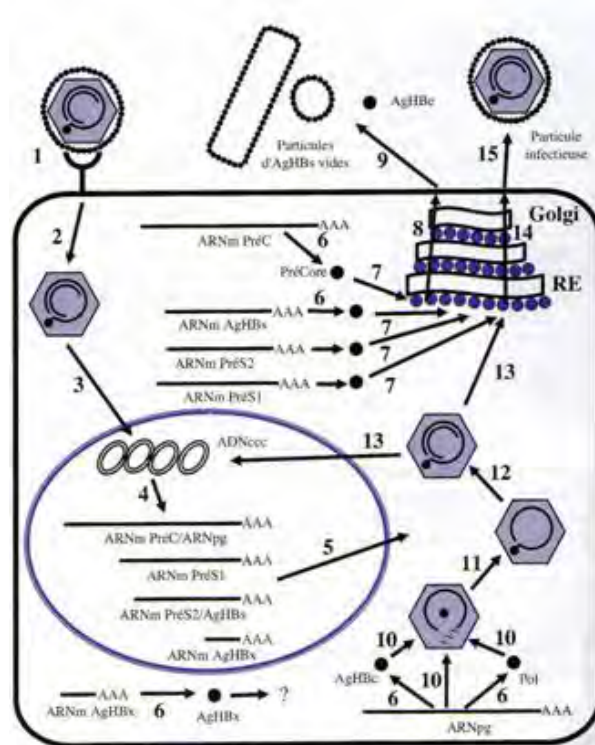
Cycle de réplication du HIV : attachement au récepteur et corécepteur cellulaires (B) – rétrotranscription de l'ARN viral en ADNdb dans le cytoplasme (C) – synthèse d'ARNm à partir de l'ADN proviral (D) – expression des protéines (E)– assemblage et maturation (F)

3.4.7- Virus à ADN utilisant une Reverse Transcriptase pour leur réplication : *Hepadnaviridae* (exemple du virus de l'hépatite B ou HBV)

Le génome du HBV est un ADN circulaire, partiellement double brin (un brin est complet, c'est le brin moins et l'autre brin plus est incomplet) et non fermé de manière covalente, cette molécule est appelée ADN-RC. Après pénétration et libération de la nucléocapside dans le cytoplasme, une série d'événements font que l'ADN-RC se retrouve au niveau du noyau sous forme parfaitement double brin et fermée de manière covalente : **ADNccc**. Celui-ci sert de matrice pour la transcription des ARNs viraux qui sont exportés vers le cytoplasme où les protéines virales sont traduites. L'un de ces ARNs, **l'ARN prégénomique (ARNpg)**, sert de matrice pour la synthèse de l'ADN du brin moins par **transcription inverse** grâce à la polymérase virale. Cette rétrotranscription se produit dans des capsides formées par l'antigène HBc au niveau du cytoplasme.

Il faut insister sur l'importance de l'ADNccc qui est au cœur du problème de la persistance virale et qui est responsable également du maintien durable des mutations générées pendant la réplication.

La polymérase du HBV est la cible de nombreuses molécules antivirales: lamivudine, adéfovir, entécavir, tenofovir.



Cycle de réplication du HBV : attachement au récepteur cellulaire (NTCP) - pénétration.- formation de l'ADNccc - transcription des ARNm et de l'ARNpg – synthèse des protéines virales – rétrotranscription de l'ARNpg en ADN viral à l'intérieur des capsides néoformées – assemblage, maturation et libération

3.5- Assemblage et maturation :

Cette étape correspond à l'assemblage des protéines de structure, l'incorporation du génome dans la procapside et la maturation des protéines par clivage protéolytique ou modification de conformation. Exemples :

- clivage de l'hémagglutinine du virus grippal par des protéases cellulaires
- clivage de la polyprotéine du poliovirus par des protéases virales ou cellulaires
- clivage des protéines gag et pol du HIV par une protéase virale. **Cette dernière est la cible d'une classe d'antirétroviraux, les inhibiteurs de protéase (Indinavir, Nelfinavir,..)**

3.6- Libération :

Les virions néoformés quittent la cellule par bourgeonnement pour les virus enveloppés ou par lyse cellulaire pour les virus nus. C'est lors du bourgeonnement que les virus constituent leurs enveloppes, celui-ci s'effectue soit directement au niveau de la membrane plasmique (virus grippal, HIV...), soit au niveau de la membrane interne du noyau (herpesvirus...) ou au niveau de la membrane de l'appareil de Golgi (*Coronaviridae*...). Les conséquences pour la cellule sont variables, certains virus enveloppés sont très cytolytiques alors que d'autres le sont peu ou pas. La libération des virus non enveloppés, au contraire, implique la lyse de la cellule.

Les inhibiteurs de la neuraminidase du virus grippal (oseltamivir et zanamivir) empêchent la libération des virions néoformés.

BIBLIOGRAPHIE

- N.J. Dimmock, A.J. Easton and K.N. Leppard. Introduction to MODERN VIROLOGY. Sixth edition, Blackwell Publishing
- Alan J. Cann. Principles of Molecular Virology. 4th Edition, ELSEVIER ACADEMIC PRESS
- A. Mamette. Virologie médicale, collection azay, presses universitaires de Lyon, 2002